

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **08290377 A**

(43) Date of publication of application: **05.11.96**

(51) Int. Cl

B25J 7/00

G02B 21/32

// C12M 1/00

(21) Application number: **07097143**

(71) Applicant: **PRIMA MEAT PACKERS LTD**

(22) Date of filing: **21.04.95**

(72) Inventor: **UENO HISAO
MIMATSU ATSUSHI**

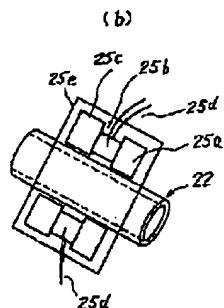
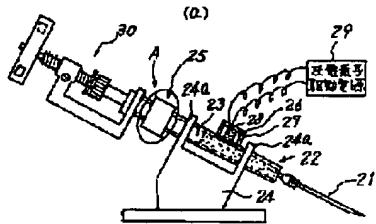
(54) **MICRO MANIPULATION DEVICE AND CELL
MANIPULATING METHOD USING IT**

(57) Abstract:

PURPOSE: To provide a manipulation device where the operating fluid capable of being correctly inserted in the cell and smoothly achieving the cell operation is directly driven, and a cell manipulating method using it.

CONSTITUTION: A micro manipulation device is provided with a micro pipette 21 to fill the fluid in the piping, a piezo-electric element 28 to be arranged through a diaphragm 27 to be brought into contact with the fluid, and a drive power supply 29 to drive the piezo-electric element 28, and the fluid in the micro pipette 21 is driven by the piezo-electric element 28.

COPYRIGHT: (C)1996,JPO



(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
B 25 J 7/00		B 25 J 7/00		
G 02 B 21/32		G 02 B 21/32		
// C 12 M 1/00		C 12 M 1/00	A	

審査請求 有 請求項の数 7 O L (全 9 頁)

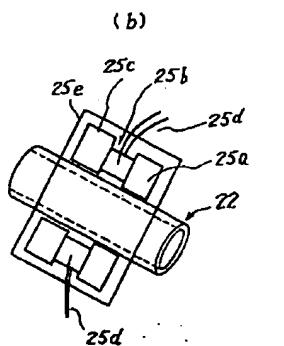
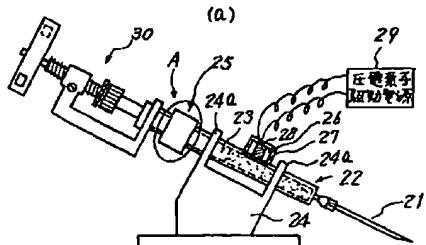
(21)出願番号	特願平7-97143	(71)出願人	000113067 ブリマハム株式会社 東京都品川区東大井3丁目17番4号
(22)出願日	平成7年(1995)4月21日	(72)発明者	上野 久雄 茨城県土浦市中向原635 ブリマハム株式会社技術開発センター内
		(72)発明者	三松 淳 茨城県土浦市中向原635 ブリマハム株式会社技術開発センター内
		(74)代理人	弁理士 清水 守 (外1名)

(54)【発明の名称】マイクロマニピュレーション装置及びそれを用いた細胞操作方法

(57)【要約】

【目的】細胞に対して的確に挿入することができるとともに、細胞操作を円滑に行い得る動作流体を、直接的に駆動するマイクロマニピュレーション装置及びそれを用いた細胞操作方法を提供する。

【構成】マイクロマニピュレーション装置において、配管内に流体が充填されるマイクロピペット21と、前記流体に接触するダイヤフラム27を介して配置される圧電素子28と、この圧電素子28を駆動する駆動電源29とを備え、前記圧電素子28の駆動により前記マイクロピペット21内の流体を駆動するようにしたものである。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 マイクロマニピュレーション装置において、(a)配管内に流体が充填されるマイクロピペットと、(b)前記流体に接触するダイヤフラムを介して配置される圧電素子と、(c)該圧電素子を駆動する駆動電源とを備え、(d)前記圧電素子の駆動により前記マイクロピペット内の流体を駆動することを特徴とするマイクロマニピュレーション装置。

【請求項2】 マイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法において、(a)固定された卵細胞にマイクロピペットを接触させる工程と、(b)前記マイクロピペットに連通する流体に接触するダイヤフラムを介して配置される圧電素子の駆動により前記マイクロピペット内の流体の吸引を行い、前記細胞の透明帯の微小部分を弱体化又は開孔する工程と、(c)該弱体化又は開孔された卵細胞の透明帯の微小部分に前記マイクロピペットを挿入する工程とを施すことを特徴とするマイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法。

【請求項3】 請求項2記載のマイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法において、前記(c)工程における挿入されたマイクロピペットを前記圧電素子の駆動により卵細胞の細胞膜の微小部分を弱体化又は開孔し、該卵細胞の細胞質を前記マイクロピペットで吸引することを特徴とするマイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法。

【請求項4】 請求項2記載のマイクロマニピュレーション装置による細胞操作方法において、前記(c)工程における挿入されたマイクロピペットを前記圧電素子の駆動により卵細胞の細胞膜の微小部分を弱体化又は開孔し、該卵細胞の細胞質内に前記マイクロピペットで薬液、DNA溶液、精子、細胞の核などの物質を注入することを特徴とするマイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法。

【請求項5】 請求項2記載のマイクロマニピュレーション装置による細胞操作方法において、前記(c)工程における挿入されたマイクロピペットを卵細胞の細胞膜の手前に位置決めし、精子を注入することを特徴とするマイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法。

【請求項6】 マイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法において、(a)固定された動物細胞にマイクロピペットを接触させる工程と、(b)前記マイクロピペットに連通する流体に接触するダイヤフラムを介して配置される圧電素子の駆動により前記マイクロピペット内の流体の吸引を行い、前記動物細胞の細胞膜の微小部分を弱体化又は開孔する工程と、(c)該弱体化又は開孔された動物細胞の細胞膜の微小部分に前記マイクロピペットを挿入する工程とを施すことを特徴とするマイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法。

【請求項7】 マイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法において、(a)固定された植物細胞にマイクロピペットを接触させる工程と、(b)前記マイクロピペットに連通する流体に接触するダイヤフラムを介して配置される圧電素子の駆動により前記マイクロピペット内の流体の吸引を行い、前記植物細胞の細胞膜の微小部分を弱体化又は開孔する工程と、(c)該弱体化又は開孔された植物細胞の細胞膜の微小部分に前記マイクロピペットを挿入する工程とを施すことを特徴とするマイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、マイクロマニピュレーション装置及びそれを用いた細胞操作方法に関する。

【0002】

【従来の技術】従来、このような分野の技術としては、以下に示すようなものがあった。図9は従来のマイクロマニピュレーションシステムの全体構成図である。図20中、1はベース、2はベース1上に配置された顕微鏡、3は位置検出器、4は微動部、5は粗動部、6はTVカメラ、7はマイクロインジェクタ、8は左操作ボックス、9は右操作ボックス、10はカメラ制御ユニット、11はビデオモニタ、12は主制御ユニットである。

【0003】この図に示すように、2つの操作ボックス8、9では、左右の微動部4、粗動部5を操作する一方で、注入液量測定など各種の機能の制御も行う。また、顕微鏡2にはTVカメラ6が設けられており、細胞の状態や微細操作の様子がビデオモニタ11に写し出され、観察される。ここで、マイクロインジェクタ7はノブを有し、マイクロマニピュレーション操作は、専ら操作者の手によって行われている。

【0004】また、マイクロマニピュレータで用いられるマイクロピペットは、通常ガラス製であり、熱加工される。このマイクロピペットを細胞に対して挿入し、細胞の内容物を吸引したり、あるいは、外部から薬液、DNA溶液、精子、細胞の核等の物質を注入させるために、マイクロピペットの先端は穴のあいた針のようになっている。

【0005】操作対象の細胞の性質、あるいはマイクロピペットの先端の径、先端の形状により挿入のし易さは異なるが、一般に容易ではなく、針先を砥石で研磨し鋭利にする。または、マイクロピペットの先端を更に熱加工し、細いスパイクを作る。あるいは針先を軸線方向に振動させるなど工夫を強いられている。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】このように、従来のマイクロマニピュレータによれば、細胞の操作には不十分であり、満足のいくものではなかった。特に、細胞の外皮を貫通する場合には、内部に大きなダメージを与え、

その細胞の操作における成功率は低く、信頼性の面で問題があった。

【0007】図10はかかる従来の細胞操作の一例を示す工程図である。

(1) まず、図10(a)に示すように、吸着孔を有する保持ピペット13で細胞14を保持する。

(2) 次に、図10(b)に示すように、細胞14の透明帯15にマイクロピペット18の先端を押し当てて透明帯15を貫通する。しかし、透明帯15は結構厚いので、細胞14の卵細胞質16にダメージを与えることになる。この透明帯15を貫通し易いように、マイクロピペット18自体を圧電素子の駆動により振動させるようにしたものが提案されている(例えば、特開平6-90770号公報参照)が、それでも、卵細胞質16にダメージを与えることは避けられない。また、マイクロピペット18の針先は卵細胞質16の奥深くまで挿入されてしまい、不用意に細胞を傷つける結果になる。

【0008】(3) 次に、図10(c)に示すように、マイクロピペット18が卵細胞膜17を貫通して、卵細胞質16へ刺入されて、薬液の注入が行われる。また、上記したマイクロピペットによる透明体の貫通時の卵細胞質のダメージをやわらげるために、圧電素子によるマイクロピペットの微小移動を行わせるようにしたものが、本願出願人等によって提案されている(特公平6-98582号公報、特公平6-98583号公報、特公平6-98584号公報等参照)。

【0009】本発明では、上記圧電素子によるマイクロピペットの微小移動に加えて、更に、マイクロピペット内の流体を、ダイヤフラムを介して別の圧電素子の駆動により、直接的に駆動し、細胞の操作を行うようにしている。本発明は、上記した従来のマイクロピペットのように、砥石での研磨や先端のスパイク加工などを必要とせず、細胞に対して的確に挿入することができるとともに、細胞操作を円滑に行い得る動作流体を、直接的に駆動するマイクロマニピュレーション装置及びそれを用いた細胞操作方法を提供することを目的とする。

【0010】

【課題を解決するための手段】本発明は、上記目的を達成するために、

(1) マイクロマニピュレーション装置において、配管内に流体が充填されるマイクロピペットと、前記流体に接触するダイヤフラムを介して配置される圧電素子と、この圧電素子を駆動する駆動電源とを備え、前記圧電素子の駆動により前記マイクロピペット内の流体を駆動するようにしたものである。

【0011】(2) マイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法において、固定された卵細胞にマイクロピペットを接触させる工程と、前記マイクロピペットに連通する流体に接触するダイヤフラムを介して配置される圧電素子の駆動により前記マイクロピペット内の流体を駆動するようにしたものの

流体の吸引を行い、前記卵細胞の透明帯の微小部分を弱体化又は開孔する工程と、この弱体化又は開孔された卵細胞の透明帯の微小部分に前記マイクロピペットを挿入する工程とを施すようにしたものである。

【0012】(3) 上記(2)記載のマイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法において、前記挿入されたマイクロピペットを前記圧電素子の駆動により卵細胞の細胞膜の微小部分を弱体化又は開孔し、この卵細胞の細胞質を前記マイクロピペットで吸引するようにしたものである。

(4) 上記(2)記載のマイクロマニピュレーション装置による細胞操作方法において、前記挿入されたマイクロピペットを前記圧電素子の駆動により卵細胞の細胞膜の微小部分を弱体化又は開孔し、この卵細胞の細胞質内に前記マイクロピペットで薬液、DNA溶液、精子、細胞の核などの物質を注入するようにしたものである。

【0013】(5) 上記(2)記載のマイクロマニピュレーション装置による細胞操作方法において、前記挿入されたマイクロピペットを卵細胞の細胞膜の手前に位置決めし、精子を注入するようにしたものである。

(6) マイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法において、固定された動物細胞にマイクロピペットを接触させる工程と、前記マイクロピペットに連通する流体に接触するダイヤフラムを介して配置される圧電素子の駆動により前記マイクロピペット内の流体の吸引を行い、前記動物細胞の細胞膜の微小部分を弱体化又は開孔する工程と、この弱体化又は開孔された動物細胞の細胞膜の微小部分に前記マイクロピペットを挿入する工程とを施すようにしたものである。

【0014】(7) マイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法において、固定された植物細胞にマイクロピペットを接触させる工程と、前記マイクロピペットに連通する流体に接触するダイヤフラムを介して配置される圧電素子の駆動により前記マイクロピペット内の流体の吸引を行い、前記植物細胞の細胞膜の微小部分を弱体化又は開孔する工程と、この弱体化又は開孔された植物細胞の細胞膜の微小部分に前記マイクロピペットを挿入する工程とを施すようにしたものである。

【0015】

【作用】本発明によれば、圧電素子を駆動すると、ダイヤフラムを介してマイクロピペット内の流体を駆動させることができる。卵細胞に対しては、まず、マイクロピペットを卵細胞の透明帯に接触させ、圧電素子を駆動させて、マイクロピペット内を負圧にすると、透明帯がマイクロピペットの先端に吸着されて、その吸着された透明帯の微小部分が弱体化又は穿通される。

【0016】そこで、マイクロピペットをその部分から卵細胞内に微小移動させる。更に、卵細胞の細胞膜に対しても圧電素子の駆動により、その微小部分を弱体化又は穿通することができる。そして、圧電素子を駆動させ

て、マイクロピペット内を負圧にして、マイクロピペットの先端から細胞質を吸入したり、圧電素子を駆動させて、マイクロピペット内を正圧にして、マイクロピペット内の精子を細胞質に注入することができる。

【0017】また、動物細胞に対しては、まず、マイクロピペットを動物細胞の細胞膜に接触させ、圧電素子を駆動させて、マイクロピペット内を負圧にすると、細胞膜がマイクロピペットの先端に吸着されて、その吸着された細胞膜の微小部分が弱体化又は穿通される。そこで、マイクロピペットをその部分から細胞膜に微小移動させる。

【0018】そして、圧電素子を駆動させて、マイクロピペット内を負圧にして、マイクロピペットの先端から細胞質を吸入したり、圧電素子を駆動させて、マイクロピペット内を正圧にして、マイクロピペット内へ薬液、DNA溶液、精子、細胞の核などの物質を注入することができる。このような操作により、動物細胞内の細胞質に何らダメージを与えることなく、細胞の操作を行うことができる。

【0019】更に、植物細胞に対しては、まず、マイクロピペットを植物細胞の細胞壁に接触させ、圧電素子を駆動させて、マイクロピペット内を負圧にすると、細胞壁がマイクロピペットの先端に吸着されて、その吸着された細胞壁の微小部分が弱体化又は穿通される。そこで、マイクロピペットをその部分から細胞壁内に微小移動させる。

【0020】そして、圧電素子を駆動させて、マイクロピペット内を負圧にして、マイクロピペットの先端から細胞質を吸入したり、圧電素子を駆動させて、マイクロピペット内を正圧にして、マイクロピペット内へ薬液や細胞の核などの物質を注入することができる。上記した機構は、換言すれば、マイクロピペットの近傍に配置された圧電素子によるマイクロピストン機構であると言える。

【0021】

【実施例】以下、本発明の実施例について図面を参照しながら詳細に説明する。図1は本発明の第1実施例を示すマイクロマニピュレーション装置の概略図であり、図1(a)はそのマイクロマニピュレーション装置の全体構成図、図1(b)はそのA部(微小移動機構)の拡大図である。

【0022】この図に示すように、マイクロピペット21をマイクロシリンジ22に取り付け、このマイクロシリンジ22はスクリュ付き注射器の構造をしており、マイクロインジェクタ30(例えば、本願出願人の提案に係る特開平3-119989号公報参照)によって、正・負の圧力を加えることができるが、また、マイクロシリンジ22は微小移動機構25により、直線方向へ移動可能にする。

【0023】更に、この実施例では、マイクロシリンジ

22の一部にチャンバー26を設け、マイクロシリンジ22内の流体に接触するようにダイヤフラム27を設け、このダイヤフラム27とチャンバー26間に圧電素子28を配置して、この圧電素子28を圧電素子駆動電源29からの印加電圧によって駆動して、マイクロシリンジ22内の流体を駆動することができる。なお、24はマイクロシリンジホルダであり、係合部24aにおいて摩擦係合させるようにしている。23はプランジャーである。

10 【0024】したがって、圧電素子28の縮小により、マイクロシリンジ22内の流体は負圧となり、マイクロピペット21により試料の吸入を行うことができ、圧電素子28の伸長により、マイクロシリンジ22内の流体は正圧となり、マイクロピペット21から流体を試料へ注入することができる。また、図1(b)に示すように、微小移動機構25は、図1(b)に示すように、マイクロシリンジ22に固定される鍔25aと、この鍔25aに固定される圧電素子25bと、この圧電素子25bに取り付けられる慣性体25cとを有し、圧電素子25bにはリード線25dにより、パルスが加えられる。また、25eはカバーである。

【0025】図2は本発明の第2実施例を示すマイクロマニピュレーション装置の構成図であり、図2(a)はそのマイクロマニピュレーション装置の全体構成図、図2(b)はそのマイクロマニピュレーション装置のマイクロシリンジ部の要部断面図、図2(c)はそのマイクロマニピュレーション装置の直線方向への微小移動機構である。

【0026】図2(a)において、31はベース、32はステージ、33はマイクロシリンジホルダ、35は微小移動機構であり、図2(c)に示すように、鍔35aに固定される圧電素子35bと、この圧電素子35bの後端に固定される慣性体35cを具備する直線方向への微小移動機構35であり、圧電素子35bにはリード線35dが接続されて、駆動パルスPが印加される(詳細は、特公平6-98582号公報参照)。

【0027】また、40はマイクロシリンジであり、このマイクロシリンジ40の後端部には上記した微小移動機構35が配置されている。このマイクロシリンジ40はマイクロシリンジホルダ33の係合部34で摩擦係合するようになっている。また、マイクロシリンジ40の先端にはマイクロピペット41が装着されている。50はこのマイクロインジェクション装置のマイクロピペット41の駆動を行うための微小移動機構35を駆動するための制御ボックス、51は位置検出器、52は顕微鏡である。

【0028】この実施例においては、更に、図2(b)に示すように、マイクロシリンジ40に、凸状のフレーム53を設けて、チャンバー54を形成し、マイクロシリンジ40内の流体57に接触するようにダイヤフラム

5 5 をチャンバー 5 4 の底部に張設し、そのダイヤフラム 5 5 と凸状のフレーム 5 3 間に圧電素子 5 6 を配置する。この圧電素子 5 6 は、圧電素子駆動電源 5 8 からの直流印加電圧 V によって、縮小・伸長駆動可能である。

【0029】なお、この圧電素子駆動電源 5 8 は、前記した制御ボックス 5 0 に統合し、総合的に制御するようにもよいことは言うまでもない。図 3 は本発明の第 3 実施例を示すマイクロマニピュレーション装置のマイクロピペットによる細胞操作状態を示す図である。図 3 に示すように、吸着孔 6 2 を有する保持ピペット 6 1 によって卵細胞 6 3 を固定する。その卵細胞 6 3 の透明帯 6 4 にマイクロピペット 7 1 の先端を接触させる。ここで、マイクロピペット 7 1 の先端の部分には、培養液、DNA 液や精子を有する浮遊液 7 2 などが入っている。その液体の後方には動作流体 7 3 が充填されている。さらには、ダイヤフラムの後方に電磁弁を設けることにより、動作流体 7 3 の容量を少なくしてピストン効果を高めることができる。

【0030】このようにして、ダイヤフラムを介した圧電素子（図示なし）の駆動により、マイクロピペット 7 1 の内部を負圧にして、卵細胞 6 3 の微小部分を吸着して、その微小部分を弱体化乃至穿通する。なお、6 5 は細胞質、6 6 は細胞質を包む細胞膜である。そこで、制御ボックス 5 0（図 2 参照）からのパルスによる圧電素子の駆動により、マイクロピペット 7 1 を前方へ微小移動機構 3 5 を駆動することにより、前記した弱体化乃至穿通された卵細胞 6 3 の微小部分にマイクロピペット 7 1 を挿入し、卵細胞 6 3 の内部にマイクロピペット 7 1 を進める（図示なし）。

【0031】以下、本発明のマイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作について説明する。図 4 は本発明のマイクロマニピュレーション装置を用いた第 1 の細胞操作工程図である。ここでは、卵細胞の操作（顕微授精）について説明する。

（1）まず、図 4（a）に示すように、吸着孔 6 2 を有する保持ピペット 6 1 で卵細胞 6 3 を保持した後、その卵細胞 6 3 の透明帯 6 4 に、マイクロピペット 8 1 の先端を接触させる。

【0032】（2）次に、図 4（b）に示すように、電磁弁 8 5 を閉じて、圧電素子 8 4 が縮小するように駆動して、液体 8 6 を負圧にして透明帯 6 4 の微小部分を吸着して、その微小部分を弱体化乃至穿通する。

（3）次いで、図 4（c）に示すように、電磁弁 8 5 は閉じたままで、透明帯 6 4 の弱体化乃至穿通した微小部分にマイクロピペット 8 1 を微小移動して、細胞膜 6 6 の微小部分を圧電素子 8 4 が縮小するように駆動して、液体 8 6 を負圧にして細胞膜 6 6 の微小部分を吸着して、その微小部分を弱体化乃至穿通してマイクロピペット 8 1 を細胞質 6 5 内に挿入する。

【0033】そこで、圧電素子 8 4 を伸長して、マイク

ロピペット 8 1 内の液体 8 6 を駆動して細胞質 6 5 内に注入する。ここで、液体 8 6 としては、例えば、薬液、DNA 液、精子、細胞の核などの物質である。なお、8 2 は凸状のフレーム、8 3 はダイヤフラムである。図 5 は本発明のマイクロマニピュレーション装置を用いた第 2 の細胞操作工程図である。ここでは、マイクロピペット 8 1 の先端部には精子浮遊液とともに、精子が存在する液体 8 7 を入れておく。

【0034】（1）まず、図 5（a）に示すように、吸着孔 6 2 を有する保持ピペット 6 1 で卵細胞 6 3 a を保持した後、その卵細胞 6 3 a の透明帯 6 4 に先端内径約 5 μm のマイクロピペット 8 1 の先端を接触させる。

（2）次に、図 5（b）に示すように、電磁弁 8 5 を閉じて、凸状のフレーム 8 2 とダイヤフラム 8 3 間に設けられる圧電素子 8 4 が縮小するように駆動して、液体 8 7 を負圧にして透明帯 6 4 の微小部分を吸着して、その微小部分を弱体化乃至穿通する。

【0035】（3）次いで、図 5（c）に示すように、電磁弁 8 5 は閉じたままで、透明帯 6 4 の弱体化乃至穿通した微小部分に、マイクロピペット 8 1 を微小移動して、透明帯 6 4 にマイクロピペット 8 1 の先端を通過させ、細胞質 6 5 a の手前に位置決めし、そこで、電磁弁 8 5 を閉じたままで、圧電素子 8 4 を伸長して、マイクロピペット 8 1 から精子浮遊液とともに、精子が存在する液体 8 7 を注入する。

【0036】すると、自力では透明帯 6 4 を穿通できない液体 8 7 内の精子も細胞膜 6 6 a は薄いので、自力で細胞質 6 5 a 内に進入することができる。その後、圧電素子 8 4 を縮小して、マイクロピペット 8 1 を負圧にして、注入された精子浮遊液を吸引、回収する。最後に、マイクロピペット 8 1 を抜去する。

【0037】図 6 は本発明のマイクロマニピュレーション装置を用いた第 3 の細胞操作工程図である。ここでも、卵細胞の操作について説明する。

（1）まず、図 6（a）に示すように、吸着孔 6 2 を有する保持ピペット 6 1 で卵細胞 6 3 を保持した後、その卵細胞 6 3 の透明帯 6 4 にマイクロピペット 8 1 の先端を接触させる。

【0038】（2）次に、図 6（b）に示すように、電磁弁 8 5 を閉じて、凸状のフレーム 8 2 とダイヤフラム 8 3 間に設けられる圧電素子 8 4 が縮小するように駆動して、液体 8 8 を負圧にして透明帯 6 4 の微小部分を吸着して、その微小部分を弱体化乃至穿通する。

（3）次いで、図 6（c）に示すように、電磁弁 8 5 は閉じたままで、透明帯 6 4 の弱体化乃至穿通した微小部分にマイクロピペット 8 1 を微小移動する。そこで、圧電素子 8 4 が縮小するように駆動して、液体 8 8 を負圧にして細胞膜 6 6 の微小部分を吸着して、その微小部分を弱体化乃至穿通してマイクロピペット 8 1 を細胞質 6 5 内に挿入する。

【0039】そこで、圧電素子84を縮小して、マイクロピペット81内の液体88を駆動して負圧にし、細胞質65内から細胞質をマイクロピペット81に吸入する。このように、上記実施例によれば、透明帯の局所にのみ応力がかかり、また、マイクロピペットは挿入された時点でも、細胞の中に必要以上に挿入されることがなく、細胞へのダメージが小さい。

【0040】また、圧電素子の縮小・伸長の程度を、印加されるパルスの高さ、パルス幅等を調整することにより、注入・吸入圧力や、注入・吸入量を変化させることができ、被対象細胞に対して最適な設定が可能であり、この点からも細胞へのダメージを小さくすることができる。更に、細胞への挿入以外に微量の吸引と注入を行うマイクロインジェクタとしても利用できることは第1実施例からも明らかである。

【0041】また、コントローラを介して、手動で吸引あるいは注入を行うマイクロマニピュレータ用微小器具として構成できることも明らかである。このように、従来の手動式マイクロインジェクタに比べ、自動で操作できるという利点以外に、上記したマイクロピストン機構をマイクロピペットに極めて近い位置に設置することができるため、配管による応答遅れがなく、応答性の高い操作ができる。

【0042】図7は本発明のマイクロマニピュレーション装置を用いた第4の細胞操作工程図である。ここでは、動物細胞の操作について説明する。

(1) まず、図7(a)に示すように、吸着孔62を有する保持ピペット61で動物細胞91を保持した後、動物細胞91の細胞膜92に、マイクロピペット81の先端を接触させる。93は核である。

【0043】(2) 次に、図7(b)に示すように、電磁弁85を閉じて、圧電素子84が縮小するように駆動して、液体86を負圧にして細胞膜92の微小部分を吸着して、その微小部分を弱体化乃至穿通する。

(3) 次いで、図7(c)に示すように、電磁弁85は閉じたままで、細胞膜92の弱体化乃至穿通した微小部分にマイクロピペット81を微小移動して、圧電素子84を伸長して、マイクロピペット81内の液体86を駆動して動物細胞91の核93内に注入する。ここで、液体86としては、例えば、薬液、DNA溶液などの物質である。なお、82は凸状のフレーム、83はダイヤフラムである。

【0044】図8は本発明のマイクロマニピュレーション装置を用いた第5の細胞操作工程図である。ここでは、植物細胞の操作について説明する。

(1) まず、図8(a)に示すように、吸着孔62を有する保持ピペット61で植物細胞101を保持した後、その植物細胞101の細胞壁102にマイクロピペット81の先端を接触させる。103は細胞膜、104は核である。

【0045】(2) 次に、図8(b)に示すように、電磁弁85を閉じて、凸状のフレーム82とダイヤフラム83間に設けられる圧電素子84が縮小するように駆動して、液体88を負圧にして植物細胞101の細胞壁102の微小部分を吸着して、その微小部分を弱体化乃至穿通する。

(3) 次いで、図8(c)に示すように、電磁弁85は閉じたままで、細胞壁102の弱体化乃至穿通した微小部分にマイクロピペット81を微小移動して、圧電素子104を縮小して、マイクロピペット81内の液体88を駆動して液体88を負圧にして植物細胞101から細胞質等をマイクロピペット81に吸入する。

【0046】なお、本発明は上記実施例に限定されるものではなく、本発明の趣旨に基づいて種々の変形が可能であり、これらを本発明の範囲から排除するものではない。

【0047】

【発明の効果】以上、詳細に説明したように、本発明によれば、卵細胞、動物細胞や植物細胞等の細胞内の細胞質に何らダメージを与えることなく、細胞の操作を行うことができる。上記した機構は、換言すれば、マイクロピペットの近傍に配置された圧電素子によるマイクロピストン機構であると言える。

【0048】また、従来の手動式マイクロインジェクタに比べ、自動で操作できるという利点以外に、上記したマイクロピストン機構をマイクロピペットに極めて近い位置に設置することができるため、配管による応答遅れがなく、応答性の高い操作ができる。

【図面の簡単な説明】

30 【図1】本発明の第1実施例を示すマイクロマニピュレーション装置の概略図である。

【図2】本発明の第2実施例を示すマイクロマニピュレーション装置の構成図である。

【図3】本発明の第3実施例を示すマイクロマニピュレーション装置のマイクロピペットによる細胞操作状態を示す図である。

【図4】本発明のマイクロマニピュレーション装置を用いた第1の細胞操作工程図である。

【図5】本発明のマイクロマニピュレーション装置を用いた第2の細胞操作工程図である。

【図6】本発明のマイクロマニピュレーション装置を用いた第3の細胞操作工程図である。

【図7】本発明のマイクロマニピュレーション装置を用いた第4の細胞操作工程図である。

【図8】本発明のマイクロマニピュレーション装置を用いた第5の細胞操作工程図である。

【図9】従来のマイクロマニピュレーションシステムの全体構成図である。

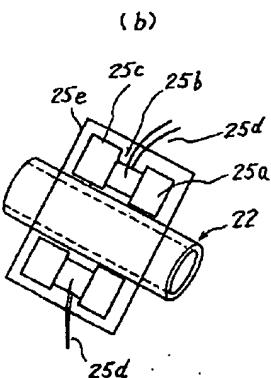
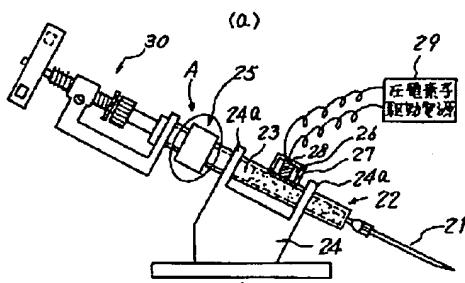
【図10】従来の細胞操作の一例を示す工程図である。

50 【符号の説明】

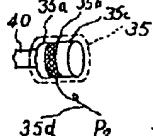
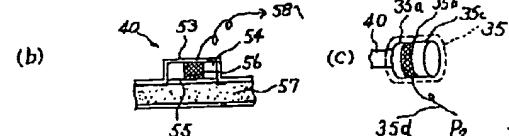
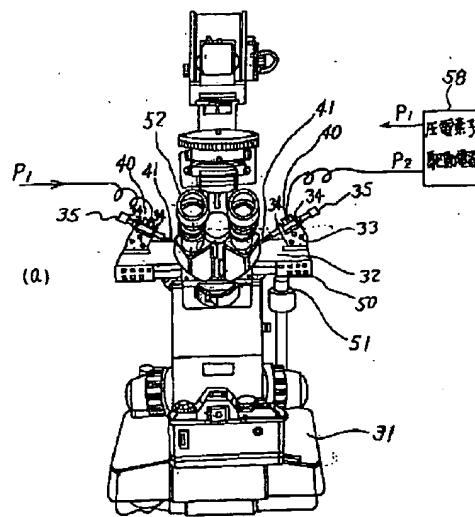
21, 41, 71, 81 マイクロピペット
 22, 40 マイクロシリング
 23 プランジャー
 24, 33 マイクロシリングホルダ
 25, 35 微小移動機構
 25a, 35a 鍔
 25b, 28, 35b, 56, 84 圧電素子
 25c, 35c 慣性体
 25d リード線
 25e カバー
 26, 54 チャンバー
 27, 55, 83 ダイヤフラム
 29, 58 圧電素子駆動電源
 30 マイクロインジェクタ
 31 ベース
 32 ステージ
 34 係合部
 35d リード線
 50 制御ボックス

51 位置検出器
 52 顕微鏡
 53, 82 凸状のフレーム
 57 流体
 61 保持ピペット
 62 吸着孔
 63, 63a 卵細胞
 64 透明帯
 65, 65a 細胞質
 10 66, 66a, 92, 103 細胞膜
 72 培養液、DNA液や精子を有する浮遊液
 73 動作流体
 85 電磁弁
 86, 87, 88 液体
 91 動物細胞
 66, 92, 103 細胞膜
 93, 104 核
 101 植物細胞
 102 細胞壁

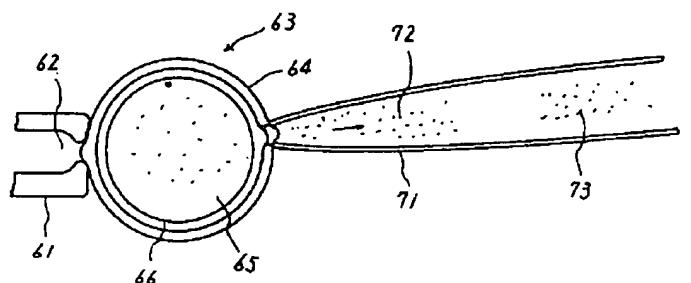
【図1】



【図2】

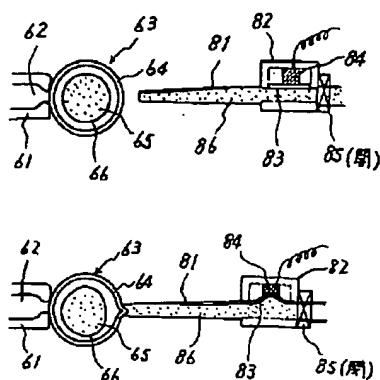


【図3】

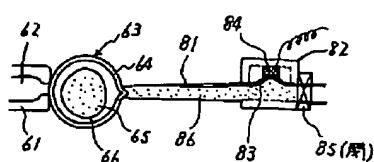


(a)

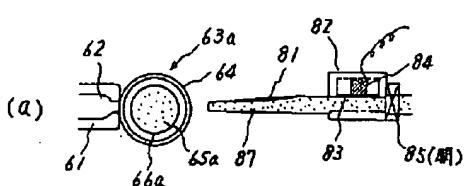
【図4】



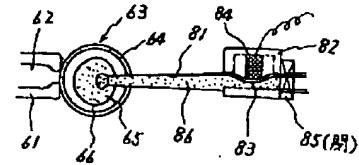
(b)



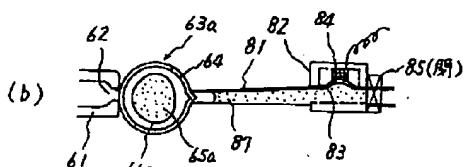
【図5】



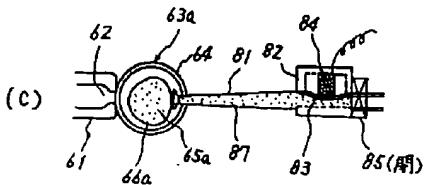
(a)



(c)

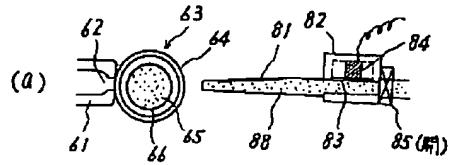


(b)

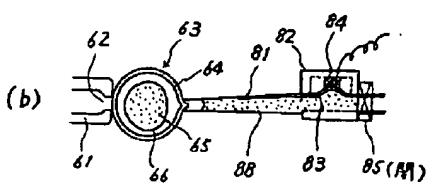


(c)

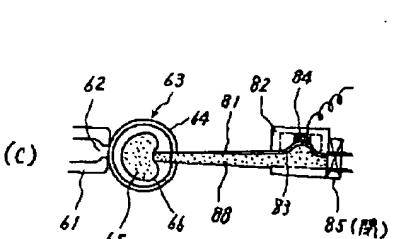
【図6】



(a)

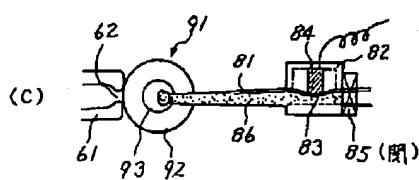
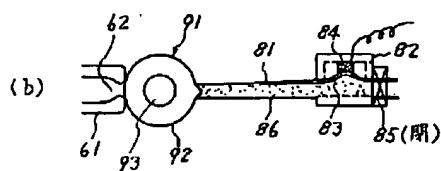
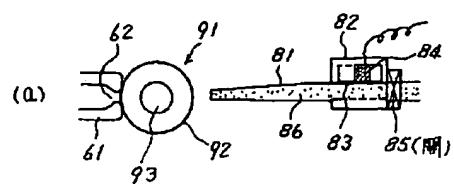


(b)

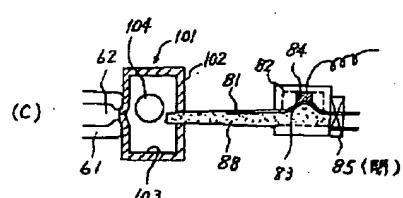
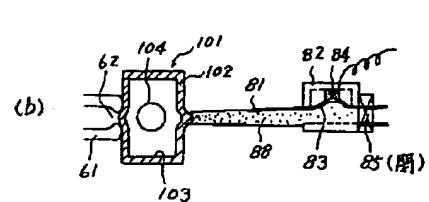
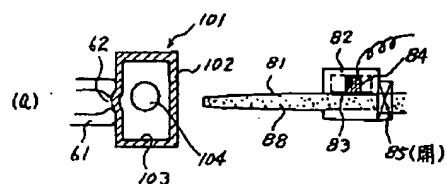


(c)

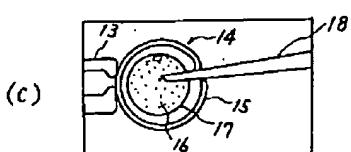
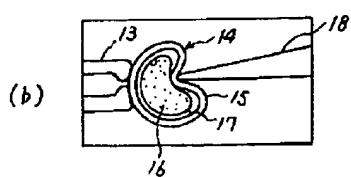
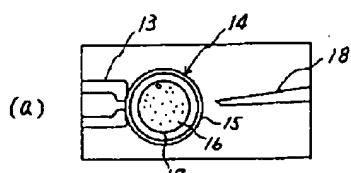
【図7】



【図8】



【図9】



【図10】

